

Die Veränderungen des ATP-Gehaltes im
Karzinomgewebe gegenüber gesundem Gewebe,
in Buttergelb-Tumoren der Rattenleber
und in der Leber mit Tetrachlorkohlenstoff
vergifteter Ratten gegenüber der Norm

von

HERMANN-JOSEF MORBACH

Aus der medizinischen Poliklinik
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. W. Seitz

Die Veränderungen des ATP-Gehaltes im Karzinomgewebe gegenüber gesundem Gewebe, in Buttergelb-Tumoren der Rattenleber und in der Leber mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteter Ratten gegenüber der Norm.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München
vorgelegt von

Hermann - Josef M o r b a c h
aus K o b l e n z (Rhein)

München 1959



5349/60

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Prof. Dr. med. W. S e i t z

Dekan: **Professor Dr. med. H. Schwegk**

Tag der mündlichen Prüfung: **15. Dez. 1959**

Disposition.

I. Einleitung

- a) Die Bedeutung des ATP für den Stoffwechsel
- b) ATP und Krebsstoffwechsel
- c) Leberschäden
- d) Tetrachlorkohlenstoffvergiftung der Leber und ATP-Gehalt (bei der Ratte)

II. Methodik

- a) Fütterung und Aufarbeitung der Tumorratten
- b) Aufarbeitung der mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten sowie der Kontrollratten
- c) Aufarbeitung des karzinomatösen und gesunden Operationsmaterials
- d) Theoretische Erläuterung des ATP-Testes
- e) Praktische Durchführung
- f) Berechnung des absoluten ATP-Gehaltes
- g) Fehlerquellen und Möglichkeiten zu ihrer Beseitigung

III. Ergebnisse

- a) Änderung des ATP-Gehaltes im experimentell erzeugten malignen Lebertumor bei der Ratte
- b) Änderung des ATP-Gehaltes der Rattenleber nach Injektion von Tetrachlorkohlenstoff
- c) Änderung des ATP-Gehaltes bei malignen Prozessen im menschlichen Organismus

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literatur-Nachweis

I. Einleitung.

=====

In der vorliegenden Arbeit soll die Veränderung des ATP-Gehaltes ⁺⁾ von maligne entarteten Organen und von toxisch geschädigter Leber untersucht werden. Drei Versuchsreihen wurden herangezogen:

1. Ein experimentell erzeugtes Hepatom der Ratte.
2. Mit Tetrachlorkohlenstoff geschädigte Rattenleber.
3. Frisches Operationsmaterial menschlicher maligner Tumoren.

a) Die Bedeutung von ATP für den Stoffwechsel.

ATP nimmt eine zentrale Stellung im gesamten Stoffwechselgeschehen ein.

ATP spielt nicht nur eine Rolle als Phosphat-Donator für Substanzen wie Phosphatide, verschiedene phosphorhaltige Co-Fermente und Vitamine, sondern auch in den verschiedenen Phosphorylierungsprozessen im Intermediär-Stoffwechsel. So werden z.B. eine Reihe von Substraten nur in phosphoryliertem Zustand resorbiert; das gilt besonders für den intermediären KH-Stoffwechsel. Man hat nachgewiesen, daß der ATP-Gehalt der Darmwand während der Verdauungsarbeit ständig abnimmt. ¹⁾

Die größte Bedeutung von ATP liegt jedoch auf dem Gebiete des Energiehaushaltes. ATP ist bei fast allen energieverbrauchenden Prozessen des Organismus der Hauptenergielieferant und ist zudem auch an der Energieverteilung und -speicherung beteiligt.

⁺⁾ In der Arbeit werden folgende Abkürzungen verwendet:

ATP = Adenosin - Tri - Phosphat

ADP = Adenosin - Di - Phosphat

C Cl₄ = Tetrachlorkohlenstoff

TPN = Triphospho - Pyridin - Nucleotid (= Codehydrase II)

DPN = Diphospho - Pyridin - Nucleotid (= Codehydrase I)

ZF = Warburgsches Zwischenferment (= Glukose-6-Phosphat - Dehydrogenase)

HK = Hexokinase

KH = Kohlenhydrate

Über die Frage nach dem Ursprung der im ATP aufgespeicherten Energie ist viel gearbeitet worden. Die Hauptmenge dieser Energie entstammt der biologischen Oxydation. Sie wird frei bei der Verbrennung des Substrat-Wasserstoffes (aus dem Zitronensäure-Zyklus) mit dem Sauerstoff der Einatemungsluft zu Wasser. Diese Energie dient dazu, aus den Vorstufen des ATP und anorganischem Phosphat die sehr energiereiche Pyrophosphatbindung des ATP wiederherzustellen und somit das durch verschiedene Arbeitsleistungen verbrauchte ATP zu regenerieren. ²⁾

An Gewebsschnitten konnte experimentell nachgewiesen werden, daß auf 1 Atom verbrauchten Sauerstoffs 2 bis 4 Moleküle anorganischen Phosphats verschwanden, die im entstandenen ATP nachgewiesen werden konnten. ²⁾

Es gibt noch andere exergonische Reaktionen im Organismus, bei denen die freiwerdende Energie im ATP aufgespeichert wird. Diese fallen jedoch gegenüber der oben beschriebenen Atmungsketten-Phosphorylierung nicht ins Gewicht.

Die im ATP aufgespeicherte Energie wird hauptsächlich bei Prozessen verbraucht, die man unter dem Begriff "Stoffwechselarbeit" zusammenfassen könnte. Hierzu gehören die komplizierten Vorgänge der Muskelkontraktion, Sekretionen, Nierenfunktion, Resorption sowie Entgiftungsprozesse, die sich vorwiegend in der Leber abspielen. Auch zahlreiche organische Synthesen, die wohl auch in die Leber zu lokalisieren sind, bedürfen der Energiezufuhr. Interessante Versuche zeigten, daß bei Zusatz von ATP zu Gewebshomogenaten unter Abwesenheit von Sauerstoff verschiedene Synthesen noch durchgeführt wurden. ¹⁾

Diese Tatsachen zeigen die eminente Bedeutung der Leber für den ATP-Haushalt.

Die verschiedenen Phosphorylierungsstufen des Adenins, deren höchste ATP ist, und das anorganische Phosphat liegen in einem ständigen Fließgleichgewicht, um bei Bedarf in der benötigten Form stets vorhanden zu sein. Der Energielieferant ATP wird auf die beschriebene Weise ständig erneuert. Lipmann hat diese Verhältnisse einmal in einem sehr treffenden Vergleich dargestellt: " Ebenso wie der elektrische Strom für die verschiedenen Zwecke

verwertet werden kann, kann der Phosphatstrom ganz verschiedene Arbeit leisten." ¹⁾

Gesteuert wird dieser Strom durch komplizierte - zum Teil noch wenig oder gar nicht erforschte - Vorgänge im innersekretorischen System. Jedenfalls spielen hier die Hypophyse, die Thyreoidea, der Inselapparat des Pankreas und die Nebennierenrinde eine Rolle. Möglicherweise wirkt sogar ATP selbst inkretorisch als Gewebshormon bei der " Substratsteuerung des Stoffwechsels " über Hypophysenvorderlappen Nebennierenrinde Körperperipherie. ¹⁾

Nach diesem Überblick über die Bedeutung von ATP im Gesamtstoffwechsel ist eine Betrachtung seiner Rolle im Zellstoffwechsel angebracht:

Man kann sagen, daß die Fähigkeit, ATP aufzubauen und das angebotene ATP zu verwerten, unbedingt gegeben sein muß, um eine Zelle auf die Dauer am Leben zu erhalten. ¹⁾

Betrachtet man die Feinstruktur der Zelle im Hinblick auf die Stoffwechselleistungen, die offensichtlich in der normalen Zelle streng an diese Struktur gebunden vollbracht werden, so kommt man - auf Grund zahlreicher Untersuchungen - zu etwa folgendem Bild:

Die Produkte des intermediären Stoffwechsels werden durch Fermentsysteme des Cytoplasmas und der Mikrosomen in Verbindungen umgeformt, die von der streng strukturiert angeordneten Fermentkette der Mitochondrien der Endoxydation zugeführt werden. Dabei entsteht Energie, die in dem Energieüberträger ATP zur weiteren Verwendung deponiert wird. Aus dieser Energiequelle schöpfen Kerne, Mikrosomen und Cytoplasma Energie für ihre eigenen speziellen Stoffwechselaufgaben, zu denen auch die Aufgabe, die aufgespaltenen Nährstoffe für die Endoxydation in der Atmungskette vorzubereiten, gehört. Fehlt ATP, so ist dieser Stoffwechselkreis unterbrochen und die Zelle nicht mehr lebensfähig. Ebenso ist dieser Kreis auch unterbrochen, wenn kein oxydierbares Substrat mehr zur Verfügung steht. Dann schwellen die Mitochondrien, die auch als " conjugated enzyme " bezeichnet werden, und das Fermentsystem wird auseinandergerissen; es liegt ein " dissociated enzyme " vor. Diese Desorientierung der Fer-

mentsysteme führt zu einer Störung der oxydativen Phosphorylierung, die ihrerseits auch die Aufgabe hatte, die Feinstruktur zu erhalten. Die Membran der stark gequollenen Mitochondrien wird durchgängiger und läßt die wenig fest gebundenen Fermente und Co - Faktoren austreten. Das Fermenteiweiß der so geschädigten Fermentketten in den Mitochondrien wird denaturiert; dadurch zerfallen dann auch die Mitochondrien selbst.

Jegliche Energieproduktion der Zelle sistiert, und der Tod der Zelle ist die unausweichliche Folge. ^{3, 4)}

Die Natur hat allerdings in der Ausbildung zahlreicher Nebenschlüsse zu diesem Stoffwechselkreis Vorsorge getragen, so daß nicht jede Zellschädigung zum Zelltod führt. Vielfach kommt es nur zur reversiblen Blockierung eines Fermentsystems. Die Zelle zeigt sich dann jedoch bestrebt, möglichst bald die normalen Verhältnisse wiederherzustellen. ⁴⁾ Zudem weisen nicht betroffene Organzellen eine erhebliche Steigerung der Mitochondrientätigkeit auf, die den Leistungsausfall zunächst zu kompensieren vermag.

Zusammenfassend läßt sich über die Bedeutung von ATP für den Zellstoffwechsel sagen:

ATP ist der strukturerhaltende Stoff der Mitochondrien und damit in großem Ausmaße für die Struktur und das Leben der Zelle notwendig.

Nach dieser mehr allgemeinen Einleitung sollen nun die speziellen Probleme der Arbeit beleuchtet werden:

b) ATP und der Krebsstoffwechsel.

Die grundlegende Ursache der Krebsentstehung ist eine irreversible Schädigung der Zellatmung. Wann und aus welchen Beweggründen die Schädigung der Atmung irreversibel wird, ist ein bis heute ungeklärtes Problem. ⁶⁾ Ob nun ein spezielles Atmungsgift zu dieser Schädigung führt (z.B. arsenige Säure), ob ein - beim menschlichen Malignom noch nicht beschriebenes - Virus die Ursache ist, ob ein Dauerreiz, wie z.B. der Druck durch chronisch intermittierende Durchblutungsstörung und Hypoxaemie die Krebsentstehung begünstigt, ist nur von sekundärer Bedeutung. Wichtig ist, daß es in all diesen Fällen zu einer Schädigung der Zell-

atmung kommt. 8,6)

Diese Schädigung muß so groß sein, daß sie irreversibel ist, darf andererseits aber nicht so groß sein, daß die Zelle abstirbt. Irgendwie muß ein Ersatz für den Verlust an Atmungsenergie geschaffen werden. Die anaerobe Gärung, die wesentlich weniger qualifiziert ist, tritt mehr und mehr in den Vordergrund. In einem Selektionsprozeß werden die schwächer gärenden Zellen von den stärker gärenden verdrängt. So entstehen aus den geschädigten zuvor hochdifferenzierten Körperzellen undifferenzierte Krebszellen. Ein Zahlenbeispiel möge das Gesagte verdeutlichen: die gesunde Leber gewinnt ungefähr 1000 mal so viel Energie durch die Atmung wie durch die Gärung. 6)

Zur Steigerung der - für den normalen Energiehaushalt insuffizienten - Gärung sind ungeheuer viele Zellteilungen notwendig, da es keine chemischen Mittel gibt, die die Gärung steigern. Dadurch ist die lange Latenzzeit in der Krebsentstehung zu erklären.

Natürlich ist zur Aufrechterhaltung der Energieversorgung der Krebszelle - wie in jeder Zelle - ATP notwendig. Nur ist dieses - im Gegensatz zum ATP der normalen Zelle - nicht strukturiert; zu einer oxydativen Phosphorylierung gehört immer Struktur. Die Gärungsphosphorylierung, die im Protoplasma vor sich geht und unstrukturiertes ATP bildet, ist ungleich weniger wertvoll als die an Strukturen gebundene oxydative Phosphorylierung.

Verdrängung der Atmung durch die Gärung und Entdifferenzierung der Zelle durch Strukturverlust gehen dabei weitgehend parallel. 6,7) Welche Bedeutung der Strukturverlust in der Karzinogenese spielt, hat Büchner in einem markanten Satz niedergelegt: " Das Karzinom bedeutet Katastrophe der Form, deren Wesen die Differenziertheit und damit zugleich die Zügelung des Wachstums ist." 8)

Da die Krebszellen bei ihrer rapiden Vermehrung einen großen Bedarf an Thymonukleinsäuren haben, zu deren Aufbau sehr viel Phosphat notwendig ist, ist ein vermehrter ATP-Abbau im Tumor die Folge. 1)

Die Kohlenhydrate spielen - wie bei der normalen Zelle - auch für den Betriebsstoffwechsel der Tumorzelle eine bedeutende Rolle. Der Tierversuch zeigte, daß mit Röntgenstrahlen beschossene Impftumoren der Ratte je nach Dosierungsgröße bis zu 50 % ihrer

anaeroben Glykolyse einbüßen. Der Angriffspunkt der Schädigung des KH-Stoffwechsels scheint bei dem Abbau von Triosephosphat zur Brenztraubensäure zu liegen. Diese Erkenntnis begründet mit die therapeutische Anwendbarkeit von Röntgenstrahlen gegen den Krebs.

Substanzen, die eine SH-Gruppe (wie z.B. Cystein) enthalten, gewähren einen gewissen Strahlenschutz, der der beschriebenen Stoffwechseldepression der bestrahlten Krebszellen entgegenwirkt. ⁹⁾

Zusammenfassend ist zu sagen:

Auch in der Krebszelle spielt ATP eine entscheidende Rolle. Mit dem Strukturverfall der Zelle löst sich auch ATP von seinen festen Strukturen, die Warburg als Grana bezeichnet ⁶⁾, behält jedoch auch in diesem Zustand seine Bedeutung für den Energiehaushalt eines enorm gesteigerten Stoffwechsels. Ohne in entsprechendem Maße regeneriert werden zu können, wird ATP in gesteigertem Umfange verbraucht; das bedeutet letzten Endes Zelltod im Zentrum des Tumors, während die in lebhaftem Wachstum begriffenen Zellen der Tumorperipherie die gesunden Zellen der Umgebung zur Deckung ihres eigenen Energiebedarfes mehr und mehr in den Prozeß einbeziehen.

c) Leberschäden.

Auf die zentrale Stellung des ATP im Leberstoffwechsel ist eingangs schon hingewiesen worden. Für viele der in der Leber stattfindenden Synthesen ist laufend ATP notwendig. Bei eingreifenden Parenchymschäden durch Lebercirrhose, Stauungsleber, hypoxämische Ernährungsstörungen wurde ein Abfall des ATP-Gehaltes festgestellt. ⁷⁾

Im Blut sinkt der ATP-Gehalt erst bei langdauernden Schädigungen ab. Jedenfalls bestehen zwischen dem ATP-Gehalt von Blut und Leber interessante Relationen, die noch nicht genügend erforscht sind. ⁷⁾

Bekanntlich können alle Hexosen nur phosphoryliert abgebaut werden. Diese Phosphorylierungen finden überwiegend in der Leber statt. Eine Versuchsreihe, die die Fruktosephosphorylierung des Cirrhotikers mit der des Lebergesunden verglich, zeigte, daß die

Phosphorylierung in der geschädigten Leber wesentlich langsamer vonstatten geht. Das kommt darin zum Ausdruck, daß der Phosphat Spiegel im Serum des Cirrhotikers nur wenig gesenkt wird; denn die Phosphatreserven des Blutes können nach Fruktosegabe nur in bescheidenem Umfang beansprucht werden, da das Regenerierungsvermögen der Phosphatenergie (ATP) in der geschädigten Leber darniederliegt. ¹⁰⁾

Auch in malignen Lebertumoren sinkt der ATP-Gehalt ab. ¹⁾ Den Zusammenhang zwischen Lebercirrhose und primärem Leberkarzinom zeigen verschiedene statistische Arbeiten auf. 60 - 80 % aller primären Leberkarzinome sollen danach auf dem Boden einer Lebercirrhose entstehen. Dabei bleibt noch zu berücksichtigen, daß bei einer normalen Sektion kleinere Karzinome übersehen werden, daß Mikro-Karzinome unter dem klinischen Bild der Cirrhose verschwinden und daß vielfach das Karzinom gar nicht zur Ausbildung kommen kann, da die Cirrhose " eo ipso " schon ad exitum führt. Nur die wenigsten echten Leberkarzinome werden klinisch als solche diagnostiziert. Darum gilt das primäre Leberkarzinom als sehr selten. Man bezeichnete aus diesen Erwägungen heraus sogar die Lebercirrhose als praekanceröse Erkrankung. ^{11,12,13)}

Eine Zunahme der Lebercirrhose wird in allen zitierten Arbeiten festgestellt.

Bei Winzern, die arsenhaltige Gifte zur Bekämpfung von Rebschädlingen über längere Zeit verwendeten, traten verschiedentlich Lebercirrhosen und daraus entwickelte Leberkarzinome auf. ¹⁴⁾

Hier zeigt sich deutlich, wie die kumulative Wirkung eines Zellgiftes langsam zu einer irreversiblen Schädigung der Zellatmung führt, während eine einmalige größere Dosis des Giftes den akuten Zelltod zur Folge hat.

Auf die Leberschädigung durch C Cl₄-Vergiftung wird in einem gesonderten Kapitel eingegangen.

d) Tetrachlorkohlenstoffvergiftung der Rattenleber und ATP-Gehalt.

Von Mamarella ist der ATP-Gehalt der Leber nach Vergiftung mit C Cl₄ untersucht worden; es zeigte sich eine erhebliche Senkung. ⁷⁾ Andererseits ließen sich Besserungen der Parenchymschäden nach längerer C Cl₄-Inhalation durch ATP-Gaben erzielen. ⁷⁾ Diese Tat-

sachen weisen schon darauf hin, daß es sich auch bei der $C Cl_4$ -Vergiftung um eine Schädigung des Leberstoffwechsels handeln muß.

Weitere Untersuchungen bestätigten, daß $C Cl_4$ ein Fermentgift mit elektiver Wirkung auf das Multi-Ferment-System der Mitochondrien ist. ⁴⁾

Die histologischen Erscheinungen, auf die später näher einzugehen ist, zeigten sich ähnlich denen einer entzündlichen Hypoxie. Im Gegensatz zu den hypoxaemischen Erscheinungen bei Malignomen sind hier alle Veränderungen, so auch die Senkung des ATP-Gehaltes, reversibel. Es handelt sich offensichtlich um keine Fermentzerstörung, sondern lediglich um eine Blockierung (s.o.). Die Zusammenhänge zwischen mangelhafter O_2 -Versorgung und gleichzeitigem Absinken des ATP-Gehaltes der geschädigten Leber sind zu erklären aus der Tatsache, daß energiereiche Phosphatide nur oxydativ synthetisiert werden. ¹⁵⁾ Das Vorliegen einer ATP-Bildung aus Gärungsenergie kommt bei dieser echten, reversiblen Vergiftung kaum in Betracht.

Das labile energiereiche Phosphat wird gleich durch initiale $C Cl_4$ -Wirkung zerstört. Die bei der Fettoxydation freiwerdende Energie ist in der Lage, das durch die Zerstörung der Energiespeicher freigewordene anorganische Phosphat wieder zu verestern. Die Stoffwechselvorgänge spielen sich nach der Vergiftung vorwiegend in der Peripherie der Leberacini ab, in der der Ausfall in den zentralen Partien durch gesteigerte Tätigkeit kompensiert wird. Hier werden auch endogene KH zur Neubildung energiereichen Phosphats herangezogen. Wahrscheinlich sind die auf diesen Umwegen gebildeten energiereichen Phosphate nicht dazu in der Lage, endergonische Reaktionen wirksam zu unterstützen; sie dienen wohl nur zur Überbrückung der Erholungszeit. ¹⁵⁾

Die Reversibilität der $C Cl_4$ -Vergiftung wurde durch Messung der Atmung und Kontrolle des ATP-Gehaltes bestätigt, die beide nach 6 bis 8 Tagen wieder normale Werte erreichten. ¹⁵⁾

Neben der Veränderung des ATP-Gehaltes ist auch das Verhalten der Aktivität der Succinooxydase untersucht worden. Es zeigte sich - wie später näher zu erörtern ist -, daß beides annähernd parallel geht. ¹⁶⁾

Die Größe der Giftdosis scheint sich dabei auf die Stärke der Veränderungen, nicht aber auf deren zeitlichen Ablauf wesentlich auszuwirken. 16,17)

Der Ablauf der histologischen Veränderungen, die sich ebenfalls wieder zurückbilden und normalisieren, gibt ungefähr folgendes Bild:

In der ersten 7 Stunden - nach intraperitonealer $C Cl_4$ -Injektion - zeigen sich keine eindeutigen Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren. Nach der 8. Stunde treten dann pyknotische Kerne und eine körnige Entmischung des Protoplasmas in den Zellen auf, die um die Zentralvene gelegen sind. Nach etwa 13 Stunden sieht man im histologischen Präparat perinukleäre Vakuolen und Kerntrümmer in den zentral gelegenen Zellen. Erst nach ungefähr 24 Stunden manifestiert sich das typische Bild der $C Cl_4$ -Vergiftung der Leber: Zellnekrosen, geblähte Leberzellen, Fettablagerung in großen Tropfen in den zentralen Lobulusanteilen und schließlich eine deutliche Trennung in normale Zellen um die Glissonschen Felder, ballonartig aufgetriebene Zellen in der Intermediärzone und nekrotische Zellen um die Zentralvene. 16)

II. Methodik.

=====

a) Fütterung und Aufarbeitung der Tumorratten:

Die Zusendung der zum Test verwendeten Ratten verdanken wir Herrn Professor Dr. D r u c k r e y (Chirurgische Klinik der Universität Freiburg i.Br.)

Die Tiere - vom Rattenstamm B D III - wurden über längere Zeit hinweg mit Latzfutter, dem eine bestimmte Menge Buttergelb zugesetzt war, gefüttert. Die Menge des aufgenommenen Buttergelb wurde bestimmt durch Gewichtskontrolle des am Abend des jeweiligen Fütterungstages noch vorhandenen Futters, in dem Buttergelb in einem ganz bestimmten Verhältnis vorhanden war. Die Tagesdosis an Buttergelb betrug 5 mg; insgesamt wurden 700 - 800 mg pro Tier verfüttert. Die kürzeste Latenzzeit wurde mit 200 Tagen angegeben. Bei der Mehrzahl der Tiere entstand nach Ablauf der Latenzzeit ein deutlich palpabler grosser Lebertumor. In vielen Fällen ließ sich allerdings auch längere Zeit nach dem Ende der Fütterungsperiode kein Befund erheben.

Die so vorbehandelten Tiere wurden häufig untersucht und kamen meist in moribundem Zustand zur Sektion. Sie erhielten einen tiefen Ätherrausch, wurden dann rasch operiert und durch Exstirpation des Herzens getötet.

Die Sektion ergab bei einer Anzahl von Tieren ein primäres Leberkarzinom, vom dem das ganze Organ befallen war; in anderen Fällen waren nur einzelne Lappen ergriffen, während die übrigen Lappen nur geringe oder gar keine Veränderungen aufwiesen. Die Leber wurde total exstirpiert und noch körperwarm, ohne vorher entblutet zu werden, in Eiswasser abgespült und mit Filtrierpapier getrocknet. Hierauf wurde unverzüglich der Test durchgeführt. -

Die Sektion der gesunden Kontrollratten geschah analog.

b) Aufarbeitung der mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten sowie der Kontrollratten.

Das Durchschnittsgewicht der in dieser Versuchsreihe getesteten Tiere vom Sprague - Dawley - Stamm betrug ca. 100 g. Sie wurden vorwiegend mit Weizenkörnern gefüttert. 12 Stunden vor dem ange-

setzten Versuch mußten die Tiere hungern. Injizierte Tiere, die über 24 Stunden im Versuch blieben, erhielten nach Ablauf dieser Zeit wieder regelmäßig ihr Futter. Wasser bekamen die Ratten während der gesamten Versuchsdauer in hinreichender Menge.

Den Kontrollratten wurde physiologische Kochsalzlösung, den Testratten unverdünnter Tetrachlorkohlenstoff mit einer Tuberkulinspritze intraperitoneal injiziert und zwar jeweils 0,12 ml pro 100 g Körper-Gewicht. Die Injektion erfolgte ohne Narkose, um eine Beeinflussung des Leberstoffwechsels durch das Narkotikum zu vermeiden.

In steigenden zeitlichen Abständen wurden dann Testtiere (mit Tetrachlorkohlenstoff vergiftet) und Kontrolltiere (mit physiologischer Kochsalzlösung) durch Dekapitierung getötet und - wie folgt - aufgearbeitet:

Die frisch dekapitierten Tiere bluteten aus und wurden dann sogleich laparotomiert. Die Leber wurde in toto entfernt, mit Eiswasser abgespült und mit Filtrierpapier getrocknet.

Der anschließende Test verlief analog dem der Tumorratten.

c) Aufarbeitung des karzinomatösen und gesunden Operationsmaterials.

Karzinomgewebe und gesundes Gewebe des gleichen Organs kamen zur Untersuchung. Die Diagnose wurde nachträglich histologisch gesichert.

Unmittelbar nach Exstirpation des betreffenden Organteiles wurden die zu untersuchenden Gewebsstücke entnommen und in Eiswasser gelegt. Die Zeit, die zwischen der Exstirpation und dem Beginn des Testes verstrich, betrug 10 - 30 Minuten. Während dieser Zeit befanden sich die Gewebsstücke immer in Eiswasser oder in einer Petrischale (feuchte Kammer) im Kühlschrank bei -4°C .

Unmittelbar vor dem Test, der genau analog zu dem Test der Rattenleber verlief, wurde das Gewebsstück auf Filtrierpapier getrocknet.

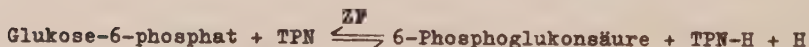
d) Theoretische Erläuterung des ATP - Testes:

Bevor die praktische Durchführung des Testes beschrieben wird, sollen Prinzip und Theorie des Testes erläutert werden:

Das Prinzip der vorliegenden ATP - Bestimmung wurde von O. Warburg und A. Koberg beschrieben. Der Test wurde nach einer etwas modifizierten Methode von W. Lamprecht durchgeführt.

ATP phosphoryliert Glukose unter dem katalytischen Einfluß von Hexokinase zu Glukose-6-phosphat unter Bildung von ADP. Das entstandene Glukose-6-phosphat wird mit dem Warburg'schen Zwischenferment zu 6-Phosphoglukonsäure dehydriert. Als Wasserstoff-Akzeptor dient das gleichzeitig zugesetzte TPN.

Dieser zweite Reaktionsschritt verläuft abhängig vom TPN. Durch quantitative Bestimmung des entstehenden TPN-H kann der ATP - Gehalt berechnet werden.



Die quantitative Bestimmung des entstandenen TPN-H erfolgt im Eppendorfschen Photometer. TPN-H hat sein Absorptionemaximum bei 334 m μ . Die Menge des entstehenden TPN-H wird durch Zunahme der Absorption verfolgt. Die Reaktion läuft so lange, bis alles ATP aufgebraucht ist und kommt dann zum Stillstand.

e) Praktische Durchführung:

- 1.) Von dem zu testenden Organ werden 2 g abgewogen und mit 8,0 ml kalter 0,6 n - Perchlorsäure enteiweißt. Das enteiweißte Organ wird im Homogenisator (Hochtouriger elektrischer Homogenisator für wissenschaftliche Zwecke der Firma Edmund Bühler / Tübingen) 2 Minuten lang bei 50 000 U/Min kalt homogenisiert. Von dem frischen Homogenat werden 4,0 ml abpipetiert und sogleich (in der Runne Zentrifuge / Heidelberg) bei 15 000 U/Min in der Kälte zentrifugiert.

Das gesamte von dem festen Rückstand abgeessene saure Zentrifugat wird durch tropfenweisen Zusatz von 0,5 n - Kalilauge

aus einer Bürette unter ständiger inniger Durchmischung bis zu einem pH-Wert von 7,4 neutralisiert. Der Grad der Neutralisation wird durch Tüpfeln mit Mercks Universal - Indikator gemessen.

Die neutralisierte Lösung soll 15 Minuten stehen bis zum quantitativen Absetzen des gebildeten $KClO_4$, kann aber auch einige Stunden bis zur Weiterverarbeitung in der Kälte aufbewahrt werden.

- 2.) Die zu dem weiteren Test notwendigen Lösungen werden nach Bedarf frisch hergestellt:

TRAP (Tri-Aethanol-Puffer): 9,3 g Tri-Aethanol (Böhringer) in 500 ml aqua bidestillata lösen, mit 22 ml Na OH auf pH 7,4 einstellen und auf 1000 ml mit aqua bidestillata auffüllen.

Magnesiumchlorid (0,1 m - Lösung): 95,2 mg $MgCl_2$ auf 20,0 ml aqua bidestillata (bzw. 238,0 mg auf 50 ml).

Glukose: (0,5 m - Lösung): 4,5 g auf 50,0 ml aqua bidestillata.

TPN : 2 mg TPN auf 1,0 ml aqua bidestillata.

Auch diese Lösungen werden bis zu ihrer Verwendung kühl aufbewahrt.

Fermente: 15 mg Hexokinase und 2 mg Warburgsches Zwischenferment werden auf einer Präzisionswaage genau abgewogen und zusammen in 1 ml aqua bidestillata aufgelöst.

Diese Lösung wurde anfangs für jeden Versuch frisch zubereitet, später - nachdem über eine Woche keine nennenswerte Aktivitätsminderung festgestellt wurde, wie Kontrollversuche eindeutig bewiesen - nur noch jeden 3. bis 4. Tag.

Während des Versuches wurden die Fermentlösungen stets in Eiswasser gehalten und auch sonst im Kühlschrank - die trockene Fermentsubstanz im Exsikkator - aufbewahrt.

Bei Temperaturen um $0^\circ C$ werden unerwünschte Veränderungen der zu untersuchenden organischen Substrate hintangehalten.

- 3.) Von dem neutralisierten Zentrifugat werden vorsichtig 1 - 2 ml dekantiert und ins Eisbad gestellt. 0,2 ml dieser Lösung

werden zum optischen Test, der im Eppendorf'schen Photometer durchgeführt wird, verwendet.

Das Eppendorf'sche Photometer wird - mit einem Filter für 334 m μ und einem 2 cm Nickelsulfatfilter - auf den Nullpunkt eingestellt. Von den genannten Lösungen werden 4,0 ml Tri-Aethanol-Puffer, 0,4 ml Glukose und 0,2 ml Magnesiumchlorid-Lösung in eine Küvette mit 2 cm Schichtdicke einpipetiert. Erst unmittelbar vor Beginn des Phototestes werden noch die obengenannten 0,2 ml der auf ATP zu testenden Lösung und 0,05 ml TPN-Lösung zugesetzt.

Die nun zu messende Extinktion gilt als Ausgangswert (t_0). Gleichzeitig wird 0,05 ml Fermentlösung mit einem Glasspatel zugesetzt, intensiv gemischt und die Zeit abgestoppt. Die Extinktionen werden anfangs alle zwei Minuten, später jede Minute abgelesen und notiert, bis der Versuch zum Stillstand kommt (t_1 , t_3 , t_5 usw.). Abschließend wird die Eigenextinktion der Fermentlösung gemessen, indem nochmals 0,05 ml von dem Fermentgemisch in die Küvette gegeben werden (Nachstart) und der hierdurch entstehende Extinktionsprung abgelesen wird. Die Eigenextinktion der Fermentlösung wird von der Gesamtextinktions-Differenz subtrahiert. So erhält man die wirkliche Extinktionsdifferenz (ΔE), die für die Berechnung des absoluten ATP - Gehaltes eine wichtige Rolle spielt.

Beispiel:

Ausgangswert: t_0 147

in der Küvette befinden sich alle Lösungen mit Ausnahme der Fermente. Gleichzeitig mit dem Zusatz der Fermente läuft die Zeitrechnung.

Nach 1 Minute	: t_1	165	nach 10 Minuten:	t_{10}	193
" 3 Minuten	: t_3	175	" 11 "	: t_{11}	195
" 5 "	: t_5	181	" 12 "	: t_{12}	196
" 7 "	: t_7	186	" 13 "	: t_{13}	196
" 8 "	: t_8	189	" 14 "	: t_{14}	196
" 9 "	: t_9	191			
gemessene Extinktionsdifferenz:					49
(Differenz zwischen t_0 und t_{14})					
Nachstart:					<u>55</u>
Eigenextinktion der Fermentlösung:					<u>6</u>
Wirkliche Extinktionsdifferenz:					43
(gemessene Extinktionsdifferenz minus Eigenextinktion der Fermentlösung)					=====

Aus diesem Werte, der ein Maß für die TPN-H - Entstehung und damit für den ATP - Verbrauch darstellt, wird der ATP - Gehalt des zu untersuchenden Gewebsstückes berechnet.

f) Berechnung des absoluten ATP - Gehaltes.

Die Berechnung des ATP - Gehaltes gehört mit zu der von den genannten Autoren ausgearbeiteten Methode zur ATP - Bestimmung.

Folgende Werte spielen für die Berechnung eine Rolle:

d = Schichtdicke der Küvette in cm

Vol_{ges} = Gesamt-Volumen in der Küvette in ml

Vol_{test} = pro Küvette eingesetzte ATP-haltige Lösung
(neutralisiertes, dekantiertes Zentrifugat) in ml

Vol_{Gewebe} = Menge des zu testenden Gewebsstückes in g

$Vol_{über}$ = Gesamt - Volumen der enteiweißten und neutralisierten Lösung (1 ml Gewebshomogenat + 4 ml Perchlorsäure + x ml verbrauchte Kalilauge) in ml

ΔE = wirkliche Extinktionsdifferenz

M_{ATP} = Molekulargewicht von ATP

mE_{ATP} = molare Extinktion von ATP

Nach folgender Formel werden die ATP - Werte berechnet:

$$\frac{\Delta E \times Vol_{ges.} \times Vol_{über} \times M_{ATP}}{d \times Vol_{test} \times Vol_{gewebe} \times mE_{ATP} \times 1000} = \gamma_{ATP} / 1 \text{ g Gewebe}$$

Variable Größen sind ΔE und $Vol_{über}$. Alle übrigen Werte sind konstant und vereinfachen die Formel wesentlich:

$$\frac{\Delta E \times 4,95 \times Vol_{über} \times 507}{2 \times 0,2 \times 1 \times 6,13 \times 1000} = \gamma_{ATP} / 1 \text{ g Gewebe}$$

Der feststehende Faktor, der sich aus den konstanten Größen ergibt, ist 1,02.

Die endgültige Formel lautet dann:

$$\Delta E \times 1,02 \times Vol_{über} = \gamma_{ATP} / 1 \text{ g Gewebe}$$

g) Fehlerquellen und Möglichkeiten zu ihrer Beseitigung.

Einige Fehlerquellen, die sich nicht beseitigen ließen, liegen in der Natur der Sache begründet: es handelt sich bei den Testen um biologisches Material, das den Gesetzen von Konstitution und dynamischen, eigenständigen Lebensvorgängen unterliegt. Interkurrente Erkrankungen der zu testenden Tiere ließen sich nicht mit Sicherheit ausschließen. Die Tumorratten reagierten zudem sehr verschieden auf die Buttergelbfütterung. So blieb bei einigen - auch lange Zeit nach Absetzen der Fütterung - eine Tumorbildung völlig aus.

Bei den getesteten Tumorratten waren die Tumoren sehr verschieden stark entwickelt. Die Diagnosen Karzinomgewebe, praecanceröses und gesundes Gewebe wurden zunächst nur aufgrund des makroskopischen Befundes gestellt.

Bei dem eigentlichen Test kam es darauf an, möglichst rasch zu arbeiten, da der ATP-Gehalt sich in vitro unter den verschiedenen Versuchsbedingungen schnell änderte. Die Aufarbeitung bis zum Neutralisieren des enteiweißten und zentrifugierten Homogenats nahm durchschnittlich - bei Einhaltung der Zeiten für die verschiedenen Arbeitsgänge - 40 bis 50 Minuten in Anspruch.

Anhand verschiedener Kontrollteste wurde festgestellt:

dass der ATP-Gehalt in der exstirpierten Leber, im sauren Homogenat und im sauren, noch nicht neutralisierten Zentrifugat innerhalb von 4 Stunden um etwa 30 % absank. Im sauren Zentrifugat, das 1 Stunde länger als notwendig aufbewahrt wurde, sank der ATP-Gehalt um etwa 15 %. Nach dem Neutralisieren des Zentrifugates ließ sich keine nennenswerte Veränderung durch längeres Stehenlassen der zu testenden Lösung mehr feststellen.

Da jedoch alle Versuche unter annähernd gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, ist anzunehmen, daß auch der Fehler in etwa der gleiche war.

Die beim Test verwendeten Lösungen wurden häufig frisch zubereitet. Ein etwaiger geringer Fehler in der Neutralisierung wurde durch den genau eingestellten Tri-Aethanol-Puffer kompensiert.

Die Konstanz der Fermentwirksamkeit wurde in Parallelversuchen gesichert.

Da die Fermente immer im Überschuß zugesetzt wurden, ist die Reaktion in jedem Falle bis zum Ende gelaufen, d.h. sie stand erst dann still, wenn alles vorhandene ATP aufgebraucht war.

III. Ergebnisse.
=====

a) Änderung des ATP - Gehaltes im experimentell erzeugten malignen Lebertumor bei der Ratte.

Werte in γ ATP/1 g Leber	
Lfd.Nr.	Wert
1	417,31
2	363,24
3	350,15
4	358,97
5	361,37
6	474,70
7	362,34
8	423,82
9	477,69
10	425,82
11	500,90
12	413,23

Tabelle 1 a

ATP - Werte in gesunder
Rattenleber

Werte in γ ATP/ 1 g Leber			
Lfd.Nr.	Tumor	"präcancerös"	normales Gewebe
1	40,49	185,67	244,26
2	51,31	132,90	129,20
3	116,43	224,54	-
4	90,24	346,30	196,90
5	132,76	127,13	-
6	119,90	-	366,86
7	111,66	-	298,34
8	50,02	-	-
9	51,01	-	-

Tabelle 1 b

ATP - Werte in der Leber von
Hepatomratten.

Als gesunde Kontrolltiere wurden absichtlich sehr verschiedenartige Tiere verwendet, um eindeutige Veränderungen im ATP-Gehalt des Ratten-Hepatoms gegenüber der gesunden Rattenleber zu erzielen.

Im Durchschnitt enthält die gesunde Rattenleber 410 γ ATP/ 1 g Leber. Dieser Durchschnittswert, aber auch alle Einzelwerte von gesundem Lebergewebe liegen weit über denen, die im eindeutigen Tumorgewebe, aber auch in nur geringerem Maße verändertem Leber-

gewebe von Hepatom-Ratten festgestellt werden. Selbst makroskopisch unverändertes Gewebe der Hepatom-Leber zeigt eine signifikante Senkung des ATP-Gehaltes gegenüber dem einer gesunden Leber.

Der Mittelwert des ATP-Gehaltes im Lebertumor beträgt $84,4 \mu\text{ ATP/1 g Leber}$.

Prozentual ausgedrückt heißt das: im künstlich gesetzten Lebertumor der Ratte sinkt der ATP-Gehalt um ca. 80 %.

Selbst im makroskopisch unveränderten Gewebe der Hepatomleber sind im Mittel nur $246,6 \mu\text{ ATP/1 g Leber}$ enthalten.

Hier ist also der ATP-Gehalt um ca. 40 % gegenüber der normalen Rattenleber abgesunken.

Zur Veranschaulichung der Veränderungen des ATP-Gehaltes im Leberkarzinom der Ratte diene die Skizze in Abb. 1.

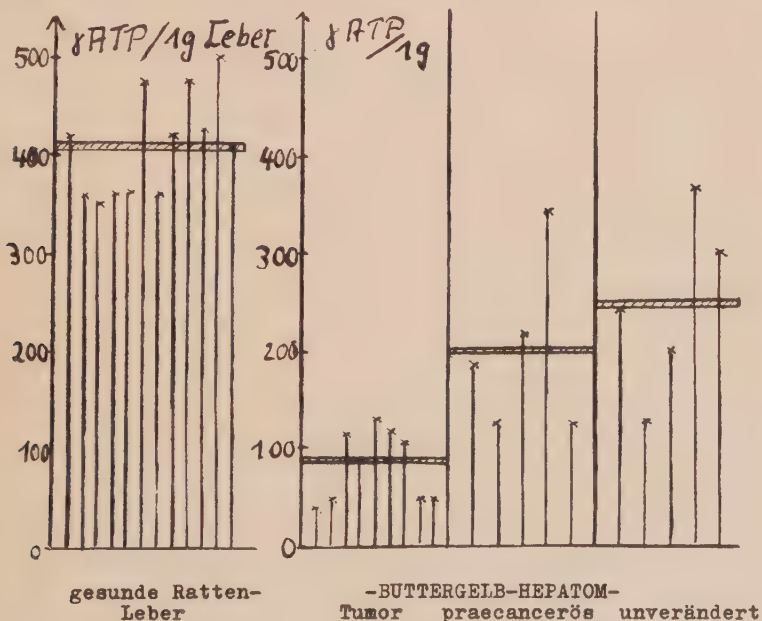


Abb. 1 Änderung des ATP-Gehaltes beim Ratten-Hepatom

Bestimmungen an anderen gesunden Organen der Ratte zeigten, daß neben der Leber die Lunge auch einen relativ hohen ATP-Gehalt von ca. 500 μ / 1 g Lunge, die Niere relativ wenig (ca. 120 μ pro 1 g Niere) und das Gehirn fast gar kein ATP enthält.

Die geringe Anzahl der Versuche gibt jedoch keine Gewähr für die Richtigkeit dieser Werte; allerdings lagen die Einzelwerte fast auf gleichem Niveau.

Beziehungen zu den Werten menschlicher analoger Organe konnten nicht festgestellt werden.

b) Änderung des ATP-Gehaltes der Rattenleber nach Injektion von Tetrachlorkohlenstoff.

Lfd. Nr.	x Stunden		Werte in μ ATP/1 g Leber	
	C Cl 4	Na Cl	C Cl 4	Na Cl
1	3/4	-	517,56	-
2	1	-	431,71	-
3	1	-	499,63	-
4	-	1	-	566,15
5	-	1	-	555,87
6	1 1/2	-	240,30	-
7	2	-	324,36	-
8	2	-	279,53	-
9	-	2	-	443,51
10	3	-	273,45	-
11	4 1/2	-	242,08	-
12	-	4 1/2	-	434,05
13	5	-	190,36	-
14	5	-	209,84	-
15	5	-	208,16	-
16	6	-	174,12	-
17	6	-	206,53	-
18	6	-	159,76	-
19	-	7	-	355,42
20	9	-	217,12	-
21	-	9	-	366,04
22	12 1/2	-	266,63	-
23	13 1/2	-	168,59	-
24	-	13 1/2	-	403,88
25	16	-	144,87	-

Lfd. Nr.	x Stunden		Werte in μ ATP/1 g Leber	
	C Cl 4	Na Cl	C Cl 4	Na Cl
26	17	-	220,76	-
27	18 1/2	-	144,17	-
28	20	-	265,12	-
29	20	-	202,67	-
30	20	-	412,55	-
31	-	20	-	359,39
32	22 1/2	-	307,51	-
33	24	-	118,01	-
34	-	25	-	324,36
35	27	-	304,21	-
36	29	-	130,31	-
37	30	-	252,73	-
38	43	-	270,40	-
39	44	-	357,48	-
40	47	-	373,11	-
41	-	48	-	436,73
42	50	-	334,73	-
43	-	50	-	401,68
44	51 1/2	-	238,60	-
45	54	-	307,51	-
46	65	-	453,81	-
47	70	-	412,02	-
48	-	70	-	491,31
49	96	-	208,05	-

Tab. 2: ATP-Gehalt in C Cl 4 vergifteten Rattenlebern und Lebern von Kontrollratten.

Auf die Schwierigkeiten beim Test von biologischen Vorgängen wurde schon hingewiesen. Es zeigte sich, daß die Werte einer ziemlichen Streuung unterliegen. Dennoch ist ein einheitlicher Verlauf in der Veränderung des ATP-Gehaltes der Leber nach Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff festzustellen, wie aus Tabelle 2 hervorgeht:

Nach einem initialen Anstieg des ATP-Gehaltes kommt es bereits in der 2. Stunde nach der Injektion zu einem deutlichen Abfall. Da ein Anstieg des ATP-Gehaltes auch bei den Kontrolltieren innerhalb der 1. Stunde erfolgt, liegt die Vermutung nahe, daß dieser Anstieg als Stress-Wirkung auf die eingreifende intraperitoneale Injektion anzusehen ist; diese Wirkung scheint nur von kurzer Dauer zu sein, da sie bereits bei den 2 Stunden-Tieren nicht mehr festzustellen ist.

Die Giftwirkung des Tetrachlorkohlenstoffs macht sich jedoch sofort bemerkbar. Das kommt darin zum Ausdruck, daß der Anstieg bei den Kontrolltieren relativ höher ist. Im Durchschnitt liegt der ATP-Gehalt der mit CCl_4 vergifteten Leber in der 1. Stunde bei $482,9 \text{ } \mu\text{g} / 1 \text{ g Leber}$, bei der Leber der Kontrolltiere bei $561 \text{ } \mu\text{g} / 1 \text{ g Leber}$.

Für die Annahme einer Stress-Wirkung spricht ferner die Tatsache, daß die Kontrolltiere von der 2. Stunde an aufwärts nur normale Werte - im Durchschnitt $410,4 \text{ } \mu\text{g ATP} / 1 \text{ g Leber}$ - aufweisen.

Außer dieser initialen Stress-Wirkung hat die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung natürlich keinen Einfluß auf den ATP-Gehalt der Leber, wie die ATP-Werte der Kontrolltiere eindeutig beweisen.

Der dem Initial-Stress folgende Abfall des ATP-Gehaltes ist verschieden stark ausgeprägt, scheint aber zwischen 5 und 10 Stunden seinen Tiefstpunkt erreicht zu haben, bleibt aber dann noch niedrig bis ungefähr zur 40. Stunde, um erst dann wieder merklich anzusteigen und in Einzelfällen wieder durchaus normale Werte zu erreichen.

Die Durchschnittswerte, die das Gesagte verdeutlichen sollen, liegen nach dem Initial-Stress bis zur 5. Stunde bei $272,5 \text{ } \mu\text{g ATP pro } 1 \text{ g Leber}$, von der 6. bis zur 10. Stunde bei $195,2 \text{ } \mu\text{g ATP} / 1 \text{ g}$

Leber, von der 10. bis zur 20. Stunde bei 228,2 μ ATP/ 1 g Leber, von der 20. bis zur 40. Stunde bei 226 μ ATP/ 1 g Leber und oberhalb der 40. Stunde bei 328,4 μ ATP/1 g Leber und in Einzelfällen sogar schon wieder über 400 μ ATP/ 1 g Leber.

Weiterhin wurde festgestellt, daß sich einige Tiere auffallend rasch erholten, während bei anderen der Abfall des ATP-Gehaltes rapid vonstatten geht; letztere Tiere kommen dann meist vor der 30. Stunde ad exitum. Die übrigen Tiere erholen sich verschieden schnell, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht.

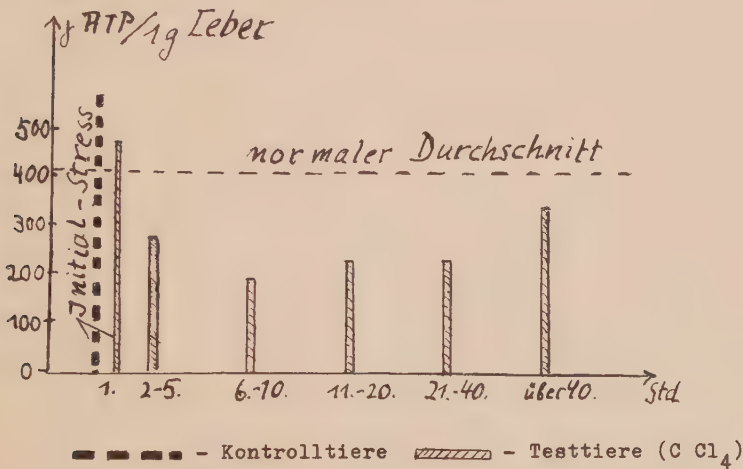


Abb. 2 Änderung des ATP-Gehaltes der Rattenleber nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen der Arbeit, die bereits in der Einleitung zitiert wurde, ¹⁵⁾ so kann man folgendes feststellen:

Die intraperitoneale Injektion von C Cl₄ scheint sich viel un-mittelbarer auf den ATP-Gehalt der Rattenleber auszuwirken als die subcutane, die dort angewendet wurde. Das äußert sich in einem wesentlich foudroyanteren Abfall des ATP-Gehaltes und in einer rascheren Erholung einerseits, in Fällen von letalem Ausgang andererseits.

Histologisch waren - wohl auch aus diesem Grunde - die dort festgestellten " reversiblen degenerativen Veränderungen " nicht so eindeutig nachweisbar. Immerhin zeigten sich auch bei unseren Versuchen fettige Degenerationen. In der zitierten Arbeit ist zudem weder von einer initialen Stress-Wirkung noch von einem letalen Ausgang die Rede.

Zusätzliche Kontrollversuche an ungespritzten Tieren zeigten, daß Hungern sich erst nach über 80 Stunden auf den ATP-Gehalt der Leber - im Sinne einer Erniedrigung - auswirkt und selbst dann nicht in allen Fällen. Außerdem erhielten bei uns alle Tiere, die nach der Injektion noch länger als 24 Stunden im Versuch blieben, in regelmäßigen Abständen Futter.

Bei Tötung durch Aetherrausch und durch Dekapitierung zeigten sich keine voneinander abweichende Werte.

c) Änderungen des ATP-Gehaltes bei malignen Prozessen im menschlichen Organismus.

Die frisch operierten Karzinome und Sarkome waren schon auf den ersten Aspekt sehr unterschiedlich. Ausschnitte aus den entsprechenden Krankengeschichten sollen gemeinsam mit den Testergebnissen Fall für Fall im Vergleich von gesundem mit tumorösem Material, aber auch in Gruppen durchgesprochen und ausgewertet werden.

1. Magen - Carzinom.

Lfd.Nr.	Sitz des Karzinoms	Karzinomgewebe in γ ATP/1 g	normales Gewebe in γ ATP/1 g	Bemerkungen
1	Fundus	0	117,80	sehr derbe Submucosa ohne Schleimhaut
2	Fundus	16,59	276,42	derbe Submucosa ohne Schleimhaut
3	Cardia	51,59	208,95	derbe Submucosa ohne Schleimhaut
4	Cardia	75,59	215,31	brüchig zerfallendes Karzinomgewebe
5	Fundus	100,73	206,26	Tumor nicht sehr derb; Schleimhaut kaum zu differenzieren
6	Cardia	117,01	175,84	Tumor derb; jedoch mit Schleimhaut über- zogen
7	Fundus	141,22	171,66	Schleimhaut über dem Karzinom kaum verän- dert
8	Fundus	312,65	304,73	Operationsdauer: 3/4 Std.; Schleimhaut grob verdickt
9	Fundus ?	151,03	160,06	Tumor diffus über den Magen verbreitet; Schleimhaut erhalten
10	Fundus und Cardia	150,38	153,28	derbes vorwiegend submucöses Karzinom mit erhaltener Schleim- haut
11	Cardia	186,91	117,29	Schleimhaut im Tumor- bereich gewuchert

Tab. 3a : ATP-Werte im
Karzinom-Magen

Unter Bemerkungen in Tabelle 3a sind eigene Feststellungen (unmittelbar nach der Operation) aufgeführt, die sich lediglich auf das zu testende kleine Gewebestück beschränken. Die maßgebende Gesamt-Diagnose wird bei den Krankengeschichten mitangeführt.

Die ATP-Bestimmungen an nicht ulcerösen Anteilen von frischen Ulcusmägen, die zudem durchgeführt wurden, sollten zeigen, in welcher Größenordnung der ATP-Gehalt beim nicht karzinomatösen Magen liegt. Bemerkenswert an den gefundenen Werten erscheint, daß bei stark hypertropher Schleimhaut der ATP-Wert wesentlich höher liegt (um 500 γ ATP/ 1 g Gewebe) als bei einer glatten Schleimhaut (um 300 γ ATP/ 1 g Gewebe).

In diesem Zusammenhang ist von besonderer Bedeutung, daß - wie aus Tabelle 3a hervorgeht - auch beim Magen-Karzinom der Schleimhautbefund ausschlaggebend für die Höhe des ATP-Gehaltes zu sein scheint:

Je stärker die Schleimhaut von dem malignen Prozess in Mitleidenschaft gezogen ist, um so tiefer sinken die ATP-Werte im tumorösen gegenüber dem makroskopisch nicht vom Karzinom befallenen Anteil ab. Ist die Schleimhaut kaum an dem malignen Prozeß beteiligt, so sind die Werte in beiden Teilen meist annähernd gleich. In einem Falle von einem Cardia-Karzinom, in dem die Schleimhaut des untersuchten Karzinomgewebes stark gewuchert war, lag der ATP-Wert sogar deutlich über dem des mit normaler Schleimhaut bedeckten Vergleichsgewebes.

Allgemein ist noch zu sagen, daß bei der Auswahl der zu untersuchenden Gewebstücke darauf geachtet wurde, möglichst alle Wandschichten in die Untersuchung einzubeziehen.

Die Krankengeschichten sollen zeigen, daß klinischer Verlauf, pathologisch - histologischer Befund und Verhalten des ATP-Gehaltes weitgehend parallel gehen. Die Nummerierung entspricht den laufenden Nummern der Tabelle 3a:

1.) 56 jähriger Patient (exitus am 10. postoperativen Tag)

Anamnese: Seit 3 Monaten Schmerzen im Epigastrium und seit 2 Monaten ständig zunehmende Schluckbeschwerden.

Blutbefund: B S G 26/54

Operationsbefund: Großer Tumorwall mit mehreren Höckern. Von hier aus wächst das Karzinom infiltrierend in die Umgebung.- Metastase in der Leber, Lymphbahn zur Milz infiltriert.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten

durch Nester eines drüsenbildenden Karzinoms; deutliche Kernpolymorphie und reichlich Mitosen; Lymphknoten weitgehend tumorös verändert.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes, metastasierendes, drüsenbildendes Adeno - Karzinom.

2.) 64 jähriger Patient (exitus am 2. postoperativen Tag)

Anamnese: Vater mit 63 a an einem Magen-Karzinom gestorben. - In 3 Monaten 12 kg Gewichtsverlust; seit 2 Monaten Appetitlosigkeit und Magenschmerzen nach dem Essen.

Blutbefund: B S G 56/86

Operationsbefund: Sehr ausgedehntes Karzinom vom Pylorus bis zur Cardia reichend. - Leber mit Metastasen übersät. Zunehmende Stenosierung des Magenumens.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch ein drüsenbildendes Karzinom; Kernpolymorphie und Mitosen; größere Metastasen in den angrenzenden Lymphknoten.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes, metastasierendes, sehr ausgedehntes Adeno-Karzinom.

3.) 53 jähriger Patient (exitus am 6. postoperativen Tag)

Anamnese: Seit über drei Monaten ziehende, stechende Schmerzen im Epigastrium besonders nach dem Essen. In 3 Monaten 22 kg Gewichtsverlust.

Blutbefund: B S G 9/24

Operationsbefund: Derber Tumor im oberen Magen mit vorwiegendem Cardia-Befall; Schleimhautdefekte und Haemorrhagien unter der hochgradig stenosierte Cardia. Der Tumor ist ins umgebende Gewebe durchgebrochen; eine Resektion im Gesunden ist unwahrscheinlich.

Histologischer Befund: Dichte Infiltration aller Wandschichten durch ein drüsenbildendes Karzinom; Kernpolymorphie, reichlich Mitosen; in den übrigen Magenpartien stark entzündliche Infiltration.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes, drüsenbildendes Karzinom mit Lymphdrüsenmetastasen.

4.) 63 jähriger Patient

Anamnese: Vater starb mit 70 a an einem Rectum-Karzinom; ein 73 jähriger Bruder ist wegen Verdacht auf Kehlkopfkrebs in Behandlung. - Seit über drei Monaten zunehmende Schmerzen im rechten Oberbauch. Röntgenkontrolle vor 2 Monaten noch o.B.; vor 1 Monat wurde röntgenologisch ein Geschwür am Mageneingang festgestellt.

Blutbefund: B S G 25/37

Operationsbefund: Kleinf Faustgroßer Tumor dicht unterhalb der Cardia.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch ein papilläres, drüsenbildendes Karzinom; in der Umgebung eine lympho - leukozytäre Infiltration. - In den regionalen Lymphdrüsen befindet sich reichlich Tumorgewebe.

Diagnose: infiltrierend wachsendes, metastasierendes Adeno-Karzinom.

5.) 62 jährige Patientin

Anamnese: Vater und ein Bruder starben an einem Karzinom. - Seit einem halben Jahr nüchtern Magenkrämpfe, Brechreiz und Ikterus. 15 kg Gewichtsverlust.

Blutbefund: B S G 40/83; Hb 59 %, Ery 2,9 Millionen F J. 1,01; Leuko 7 300.

Operationsbefund: Tumor im Antrumteil des Magens. Zahlreiche Lymphknotenmetastasen an der kleinen und großen Kurvatur und im Coeliaca-Gebiet. Der Tumor hat die Serosa durchbrochen und reicht bis zum Duodenum.

Histologischer Befund: Sehr dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch große Nester eines hochzylindrischen Adeno-Karzinoms mit teilweise erheblicher extrazellulärer Schleimbildung, starker Kernpolymorphie, vielen Mitosen und hochgradiger entzündlicher lympho - leukozytärer Stromareaktion.

In den umgebenden Lymphdrüsen zahlreiche metastatische Karzinom-Zellnester.

Diagnose: Schleimbildendes Adeno-Karzinom (Gallert-Karzinom).

6.) 55 jähriger Patient

Anamnese: 1 Bruder mit Verdacht auf Magen-Karzinom operiert. - Vor 7 Monaten erstmalig geringe Magenbeschwerden. In den letzten Monaten verschiedene Polypen am Mageneingang entfernt; vor einem Monat endoskopisch ein Karzinom der Cardia nachgewiesen.

Blutbefund: B S G 30/58

Operationsbefund: Länglicher Tumorbezirk mit zentraler Zerfallshöhle im Cardia-Bereich.

Histologischer Befund: Dichte Infiltration der Magenwand durch drüsenbildendes Karzinom; Kernpolymorphie und atypische Mitosen. Im Oesophagus Ulceration mit Granulationsgewebe.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes Adeno-Karzinom.

7.) 74 jährige Patientin (exitus am 8. postoperativen Tag; Kreislaufschwäche)

Anamnese: Seit über 20 Jahren immer wieder auftretende Magenbeschwerden. Jetzt Magenschmerzen und Übelkeit nach jeder festen Mahlzeit; starker Gewichtsverlust.

Blutbefund: B S G 38/69; Hb 70 %, Ery 4,13 Millionen, F J 0,85.

Operationsbefund: Magenkarzinom mit Stenosierung (Sanduhrmagen). Um das Karzinom ist die Schleimhaut grob verdickt; die Schleimhaut selbst ist o.B.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch ein hochgradig schleimbildendes Karzinom; Polymorphie der Kerne und Mitosen. - Knotige Metastasen im umgebenden Gewebe.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes, metastasierendes Gallert-Karzinom.

8.) 57 jähriger Patient

Anamnese: Vater mit 70 a an Blasenkrebs, Mutter mit 70 a an Luftröhrenkrebs gestorben. -

Vor 7 Wochen erstmals leichte Schmerzen (nüchtern und nach dem Essen); nur geringe Gewichtsabnahme.

Blutbefund: B S G 8/24

Operationsbefund: polypöser, wallartiger Tumor, im Zentrum wuchernd (zum Teil nekrotisch). Die Magenschleimhaut ist grob verdickt (hyperplastische Gastritis).

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch drüsenbildendes Karzinom; Kernpolymorphie und Mitosen. In den Lymphknoten randständige Tumornester, zentral nekrotischer Zerfall.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes, metastasierendes Adenokarzinom.

9.) 54 jähriger Patient

Anamnese: Vater starb mit 54 a wahrscheinlich an einem Magen-Karzinom. - Seit 5 Wochen Druckschmerz im Epigastrium unabhängig von der Nahrungsaufnahme.

Blutbefund: B S G 66/104; Hb 78 %, Ery 4,13 Millionen, F J 0,95; Leuko 17150.

Operationsbefund: Faustgroßer Tumor vom Angulus bis zu Cardia reichend, teilweise die Serosa durchbrechend (Verklebungen mit dem Pankreas). Drüsen im Omentum maius.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung der Magenwand durch solide Nester plattenepithelähnlicher, stellenweise zentral verhornter Tumorzellen mit hochgradiger Kernpolymorphie und atypischen Mitosen. Histologisch im Netz keine Metastasen nachweisbar.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes Plattenepithel-Karzinom (möglicherweise von der Cardia oder vom Oesophagus ausgehend).

10.) 60 jähriger Patient

Anamnese: Vater mit 76 a an Magen-Karzinom gestorben. Seit einem halben Jahr Völlegefühl, Nüchterschmerz, Inappetenz. 10 kg Gewichtsverlust.

Blutbefund: B S G 4/11; Hb 81 %, Ery 3,9 Millionen, F J 1,03; Leuko 10900.

Operationsbefund: Der Tumor erfaßt den ganzen Magen, besonders an der kleinen Kurvatur. Kein Anhalt für Metastasen.

Histologischer Befund: Im Cardiabereich - vorwiegend unterhalb der mehrschichtigen oesophagealen Plattenepithelschleimhaut sehr dichte Infiltrierung aller Wandschichten durch kleinste Nester und vollkommen isolierte Zellen eines ausgesprochen scirrhus gebauten hochdifferenzierten Karzinoms mit erheblicher Kernpolymorphie. Scirrhus gebaute Zellnester auch in den Lymphdrüsen.

Diagnose: Scirrhus Cardia-Karzinom mit regionären Lymphdrüsenmetastasen.

11.) 49 jähriger Patient

Anamnese: Vater mit 76 a, Mutter mit 52 a an einem inoperablen Magen-Karzinom gestorben. 1 Schwester mit 34 a und 6 weitere Geschwister zwischen 50 und 70 a an Magen-Karzinom gestorben.

NB! 9 Todesfälle von Magen-Karzinom in der Familien-Anamnese.

Operationsbefund: Wallartiger Tumor mit zentraler Wucherung, Ränder derb; Schleimhaut grob gefältelt.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung der Magenwand durch drüsenbildendes Karzinom; Kernpolymorphie und Mitosen.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes Adeno-Karzinom.

Betrachtet man zunächst nur die Krankengeschichten, so läßt sich feststellen:

Das Magen-Karzinom, das auch auffallend häufig in der Familienanamnese auftaucht, befällt überwiegend männliche Individuen jenseits des 50. Lebensjahres. Die Magenanamnese reicht selten weiter als 3 - 6 Monate zurück. Die Senkung ist in der Mehrzahl der Fälle beschleunigt; jedoch fehlt dieses Symptom auch des öfteren. Auch die Gewichtsabnahme ist sehr unterschiedlich. - Die häufigste Form ist das vom Fundus ausgehende Adeno-Karzinom.

Vergleicht man nun Krankengeschichte und ATP-Veränderung im Karzinom, so läßt sich folgendes feststellen:

Besonders eindeutige Senkungen des ATP-Gehaltes im Karzinom gegenüber dem der normalen Schleimhaut zeigten sich in fast

allen Fällen, die bald nach der Operation einen letalen Ausgang nahmen.

Alle diese Fälle weisen eine besonders kurze Anamnese ihrer Magenbeschwerden auf (3 Monate). In diesen besonders schweren Fällen zeigten sich besonders starker Gewichtsverlust in der Anamnese und zahlreiche Metastasen eines meist stenosierenden Karzinoms im Operationsbefund.

2. Maligne Prozesse an der Lunge.

Lfd. Nr.	Befund	Tumorgewebe γ ATP/ 1 g	normales Gewebe γ ATP/ 1 g
1	Sarkom-Metastase	60,59	66,96
2	Bronchus-Karzinom	69,52	66,44
3	Bronchus-Karzinom	209,33	192,82
4	Bronchus-Karzinom	68,34	68,75
5	Bronchus-Karzinom	-	260,68

Tabelle 3 b: ATP-Werte im Lungen-Malignom

Beim Lungenmalignom bestanden durchweg annähernd gleiche Werte in den zu vergleichenden Gewebstücken. Die Niveauunterschiede der einzelnen Fälle untereinander sind auf Faktoren wie verschieden lange Operationsdauer, unterschiedlich lange Blutleere im untersuchten Gewebe usw. zurückzuführen.

Ein Vergleich mit den entsprechenden Krankengeschichten erübrigt sich im Hinblick auf das Fehlen jeglicher Veränderung des ATP-Gehaltes.

3. Mamma - Karzinome.

Lfd.Nr.	Karzinom-Gewebe γ ATP/ 1 g	normales Gewebe γ ATP/ 1 g
1	44,86	21,78
2	68,75	8,61
3	41,18	17,43

Tabelle 3 c: ATP-Gehalt im Mamma-Karzinom.

Das normale Vergleichsgewebe bestand hier überwiegend aus Fettgewebe (Depotfett), das im Phosphatidstoffwechsel - wenigstens unter den zu erörternden Gesichtspunkten - keine wesentliche Rolle spielt. Der ATP-Gehalt war kaum meßbar, jedenfalls immer niedriger als in dem derben, fettärmeren Tumorgewebe. Unter diesen Gesichtspunkten erübrigt sich der Vergleich mit den entsprechenden Krankengeschichten.

4. Maligne Prozesse an verschiedenen anderen Organen.

(Einzelfälle)

In einem zweifaustgroßen, nicht metastasierenden Hypernephrom zeigte sich ein deutlicher Abfall des ATP-Gehaltes (68,23 μ / 1 g Gewebe) gegenüber dem normalen Nierenparenchym, (153,34 μ / 1 g Gewebe). Die Patientin kam eine Woche nach der Operation ad exitum.

In einer stark gestauten Echinokokken-Leber ist der ATP-Gehalt (249,2 μ / 1 g Leber) deutlich höher als in einer lokalen Karzinom-Metastase in der Leber (164,09 μ / 1 g Leber) ausgehend von einem Gallengang-Karzinom (77,15 μ ATP / 1 g Gewebe); ein Stück unveränderter Magenschleimhaut vom selben Patienten enthielt 277,53 μ ATP / 1 g Gewebe.

Interessant ist auch der hohe ATP-Gehalt in der Nackenmuskulatur eines Patienten (440,80 μ / 1 g Gewebe) und der steile Abfall des ATP-Wertes in einem hiervon ausgehenden Spindelzell-Sarkom (58,51 μ / 1 g Gewebe).

Bei zwei Fällen von Darmtumoren bestätigte sich das vom Magen-Karzinom Ausgesagte:

In dem einen Falle - einem Colon (ascendens)-Karzinom - wies die Tumorgewebsprobe mit einer derben Submukosa und einer nekrotisch zerfallenden Mucosa deutlich weniger ATP (92,05 μ pro 1 g Gewebe) als das gesunde Vergleichsgewebe (148,69 μ / 1 g Gewebe) auf.

In dem anderen Falle - einem Rectum-Karzinom - mit weniger stark ausgeprägten Schleimhautdefekten waren auch die Unterschiede im ATP-Gehalt geringer (192,59 μ gegenüber 227,47 μ ATP pro 1 g Gewebe).

IV. Diskussion.

=====

Wie schon aus den Ausführungen in der Einleitung hervorgeht, ist die Leber das prädisponierte Organ für Stoffwechseluntersuchungen.

Die Gründe hierfür sind:

- 1.) Die Leber ist gewissermaßen die Stoffwechselzentrale des Organismus.
- 2.) Die Leber ist in ihrem Aufbau homogen und reich an Parenchymzellen, in die die wichtigsten Stoffwechselfunktionen zu lokalisieren sind. Diese Tatsachen bieten auch günstige Vergleichsmöglichkeiten zu unbehandelten Kontrollen.
- 3.) Durch die Größe des Organs entstehen keine Schwierigkeiten in der Beschaffung ausreichender Gewebsmengen. ¹⁸⁾

Auch in den Ergebnissen kommt die bevorzugte Stellung der Leber für Stoffwechseluntersuchungen zur Geltung, indem die Leberuntersuchungen zu wesentlich eindeutigeren Ergebnissen führten als die an anderen Organen.

Bei der Darstellung der Ergebnisse sind diese schon teilweise diskutiert worden.

Eine kritische Zusammenfassung der Arbeit ergibt:

Eine in der Versuchsanordnung und -durchführung sehr ähnliche Arbeit über die Frühveränderungen der Rattenleber nach Verfütterung cancerogener Azofarbstoffe (u.a. auch Buttergelb) ¹⁸⁾ führte zu folgenden Feststellungen:

Schon die kurze Fütterung (4 Tage) der genannten Stoffe rief eine deutliche Minderung normal funktionierender Mitochondrien in der Rattenleber hervor. Gleichzeitig wurde auch das Glykogenspeicherungsvermögen der Leber herabgesetzt, während der Blutzucker in gleichem Maße anstieg. ¹⁸⁾

Es wurde andererseits nachgewiesen, daß die von Warburg postulierte und beschriebene Störung der Atmung ⁶⁾ noch nicht gleich zu Anfang auftritt. Nach 6 - 8 Monaten kommt es allerdings zu einer beträchtlichen Schädigung der Atmung, die mit den Befunden

der vorliegenden Arbeit weitgehend parallel verläuft.

Bei den Kurzversuchen stieg - entgegen den Erwartungen - der ATP-Gehalt beträchtlich an in Einklang mit der noch unverminderten Atmung. Verschiedene Erklärungsmöglichkeiten wurden in Erwägung gezogen: Schädigung der ATP-ase durch das Cancerogen, verminderter ATP-Verbrauch durch Ausfall bestimmter synthetischer Stoffwechselleistungen bei normaler ATP-Bildung, energetische Kompensation der schon eingetretenen Stoffwechselschädigungen durch ATP-Überschuß.¹⁸⁾

Vielleicht spielen diese Erklärungen auch eine Rolle bei der beobachteten initialen Steigerung des ATP-Gehaltes nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.

Was sich in der langen Latenzzeit bis zum Auftreten eines klinisch manifesten Tumors im Stoffwechselgeschehen ereignet, ist nicht untersucht worden. Im Endstadium liegt jedenfalls eine eindeutige Senkung des ATP-Gehaltes vor. Jetzt ist die Atmung endgültig und irreversibel geschädigt und größtenteils durch Gärung ersetzt. Selbst im "praecancerösen" Lebergewebe ist eine eindeutige Schädigung der Atmung eingetreten. Diese Befunde decken sich mit dem Verhalten der ATP-Werte.

Eine restlose energetische Kompensation des Stoffwechselausfalles scheint nicht mehr möglich; in dem zellreichen Karzinomgewebe werden zudem die vorhandenen Phosphate in steigendem Umfange für die Bildung der - in jeder Zelle reichlich vorhandenen - Nucleinsäuren beansprucht. Damit sei ein Erklärungsversuch für den niedrigen ATP-Gehalt in malignen Tumoren gegeben.

Auf die Anreicherung von ATP in sezernierender und resorbierender Schleimhaut ist eingangs schon hingewiesen worden. Der Funktionsausfall in diesen Geweben durch wuchernde Karzinome geht mit dem Abfall des ATP-Gehaltes parallel.

Relativ zellarme, teilweise bindegewebige Organe - wie die Lunge - scheinen für den ATP-Haushalt keine bedeutende Rolle zu spielen. Darum ist hier auch keine Senkung des ATP-Gehaltes im maligne degenerierten Organteil festzustellen.

In der Arbeit von Zöllner über die Einwirkung von C Cl_4 auf die Dehydrierung der Bernsteinsäure ¹⁶⁾ ergaben sich interessante Parallelen:

Nach einer anfänglichen kurzen Aktivierung nahm die Dehydrierung der Bernsteinsäure ab und erreichte nach etwa 10 Stunden ein Minimum. Langsam folgte dann die Wiederherstellung normaler Verhältnisse. - In diesen Befunden findet sich der Verlauf der Veränderungen des ATP-Gehaltes bestätigt.

Die Zusammenhänge können möglicherweise wie folgt erklärt werden:

Die Dehydrierung der Bernsteinsäure liefert Substrat-Wasserstoff für die biologische Oxydation, deren Energiegewinn der ATP-Synthese zugute kommt. Verminderter Substrat-Wasserstoff bedeutet darum verminderte Energie zur ATP-Synthese.

Das Verhalten des ATP bei Stoffwechselschäden - sei es bei der reversiblen C Cl_4 -Vergiftung, sei es bei der irreversiblen malignen Degeneration eines Organs - gibt einen Einblick in die Energielage des betreffenden Organs.

V. Zusammenfassung.

=====

Bei Prozessen, die den Energiehaushalt der Zelle schädigen, ist der ATP-Gehalt signifikant gesenkt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Senkung des ATP-Gehaltes an malignen Tumoren (Ratten-Hepatom, menschliches Magen-Karzinom) und nach Lebervergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff untersucht.

Dabei boten sich folgende Befunde:

1.) Im durch Buttergelb-Fütterung erzeugten Ratten-Hepatom wurde die Leber insgesamt geschädigt. Der ATP-Gehalt wurde in einem sehr fortgeschrittenen Stadium der malignen Entartung untersucht.

Gegenüber den Kontrollratten (durchschnittlicher ATP-Gehalt: $410 \mu\text{g} / 1 \text{ g Leber}$) sank der ATP-Gehalt im Tumorgewebe um ca. 80 %, im "praecancerösen" Gewebe um ca. 50 % und selbst im makroskopisch unveränderten Lebergewebe der Tumorratte um ca. 40 %.

2.) Im Vergleich zur subkutanen CCl_4 -Injektion in einer ähnlichen Arbeit ¹⁵⁾ liefen bei intraperitonealer CCl_4 -Injektion die reversiblen Veränderungen des ATP-Gehaltes wesentlich rascher ab; sowohl Senkung als auch Normalisierung des ATP-Gehaltes der mit CCl_4 geschädigten Leber traten schneller ein.

Die prozentualen Veränderungen beziehen sich auf den mittleren ATP-Gehalt der Leber der mit physiologischer Kochsalz-Lösung gespritzten Kontrolltiere ($410 \mu\text{g ATP} / 1 \text{ g Leber}$). In der 1. Stunde stieg der ATP-Gehalt der Leber der Kontrolltiere um ca. 35 % an, bei den Testtieren (mit CCl_4 vergiftet) nur um ca. 15 %. (Die Differenz erklärt sich aus der unmittelbar einsetzenden Giftwirkung des CCl_4). Die Kontrolltiere kehrten dann wieder auf einen ATP-Gehalt zurück, der ungefähr dem ATP-Gehalt der Leber unbehandelter Ratten entsprach. Nach diesem initialen Anstieg kam es zu signifikanten Senkungen des ATP-Gehaltes: nach 5 Stunden um ca. 30 % und nach 10 Stunden um ca. 50 %. Dann erfolgte langsam wieder ein Anstieg des ATP-Gehal-

tes, der - mit starken individuellen Schwankungen - bis zur 40. Stunde um ca. 40 %, nach der 40. Stunde nur noch um ca. 20 % gesenkt war.

Hierbei zeigten einige Tiere nach über 40 Stunden schon wieder durchaus normale Werte.

3.) Unter den menschlichen Malignomen wurden nur bei dem Magen-Karzinom eindeutige Ergebnisse erzielt. Hier zeigte sich eine deutliche Abnahme des ATP-Gehaltes parallel zur Stärke der pathoglogisch-histologischen Veränderungen und zum klinischen Verlauf; m.a.W. je stärker die funktionellen Aufgaben der Magenschleimhaut von dem malignen Prozess in Mitleidenchaft gezogen waren und je maligner der Verlauf klinisch war (kurze Anamnese, letaler Ausgang), um so niedriger waren auch die ATP-Werte.

VI. Literatur-Nachweis.

=====

Die Indices 1 - 17 sind an den entsprechenden Stellen im Text angeführt:

- 1.) W. Herbrand, K.H. Jaeger: Das Adenylsäuresystem (2. Beiheft zur Arzneimittelforschung) Editio cantor, Aullendorf/Württemberg (1952)
- 2.) K. Felix: Die Energieproduktion der tierischen Zelle, Münchener Medizinische Wochenschrift 94, 22-37 (1952)
- 3.) J. Raaflaub: Über den Wirkungsmechanismus von ATP als Cofactor isolierter Mitochondrien
Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta 11, 157-163 (1953)
- 4.) G. Laudann, H. Höltzl: Therapie mit Mitochondrien, Ärztliche Wochenschrift XI. Jahrgang 29, 634-641 (1956)
- 5.) G. Laudann: Grundlagen und tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage einer therapeutischen Anwendbarkeit isolierter Mitochondrien.
Ärztliche Forschung X. Jahrgang 11, 513-524 (1956)
- 6.) O. Warburg: Über die Entstehung der Krebszellen.
Die Naturwissenschaften 42, 401 ff (1955)
- 7.) H. Mittenzwei, K.H. Jaeger, K. Boettge: Das Adenylsäuresystem Editio Cantor, Aullendorf/Württemberg (1957)
- 8.) F. Büchner: Geschwulst - Pathologie
Allgemeine Pathologie, Verlag Urban & Schwarzenberg S.259 ff

- 9.) G. Höhne u.a.: Der Kohlenhydrat-Stoffwechsel von Impftumoren nach Röntgenbestrahlung in vitro.
Zeitschrift für Krebsforschung 61, 666-672 (1957)
- 10.) M. Rosenzweig, J. Frei: Origine possible de la contrerégulation du taux de phosphate inorganique sérique après surcharge intraveineuse de fructose.
Schweizer Medizinische Wochenschrift 85, 878 ff (1955)
- 11.) K. Köhn: Über das Vorkommen von Mikro-Karzinomen in cirrhotischen Lebern.
Zeitschrift für Krebsforschung 61, 350-383 (1956)
- 12.) K. Lunzenauer: Über das primäre Leberkarzinom.
Zeitschrift für Krebsforschung 60, 630-638 (1955)
- 13.) P.G. Meyer: Das primäre Leberkarzinom in Basel.
Zeitschrift für Krebsforschung 60, 115-138 (1954)
- 14.) F. Roth: Arsen - Leber - Tumoren.
Zeitschrift für Krebsforschung 61, 468-503 (1957)
- 15.) L. Benda, A. Locher, E. Rissel: Die Atmung der Leber nach Tetrachlorkohlenstoff-Einwirkung in vivo.
Zeitschrift für experimentelle Medizin 126, 537-545 (1956)
- 16.) N. Zöllner, E. Raisich: Beobachtungen über den zeitlichen Ablauf der Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff bei der Ratte.
Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin 128, 140-147 (1956)
- 17.) N. Zöllner, H. Groebl: Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung von Ratten
Hoppe-Seylers-Zeitschrift für physiologische Chemie Bd.290 (1952)

- 18.) A. Graffi, W. Hebekerl: Über chronische Frühveränderungen
der Rattenleber nach Verfütterung
cancerogener Azofarbstoffe.
Archiv für Geschwulstforschung Bd.5,
1 ff (1953) (1.-5.Mitteilung)

Die vorliegende Arbeit wurde im Isotopenlabor der Medizinischen Universitätspoliklinik ausgeführt.

Für die Möglichkeit, im Isotopenlabor arbeiten zu dürfen, sowie für die Überlassung des Themas danke ich Herrn Professor Dr. W. S e i t z recht herzlich.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Dr. v. B r a n d , der Leiterin des Isotopenlabors, die mir bei der Durchführung der Experimente mit Rat und Tat zur Seite stand und mir die Grundlagen der biochemischen Arbeitsweise vermittelte.

Frau Dr. W o l l e r danke ich für ihre gute Einführung in die Methodik des ATP-Tests.

Herrn Dozent Dr. H a r t e n b a c h (chirurgische Universitätsklinik München) und Herrn Professor Dr. S t r u p p l e r (chirurgische Universitäts-Poliklinik München) danke ich dafür, daß sie mir Operationsmaterial zur experimentellen Untersuchung überließen.

L e b e n s l a u f

Am 13. April 1934 wurde ich in Wuppertal-Elberfeld geboren.

In den Jahren 1940 - 1945 besuchte ich Volksschulen in Wuppertal, Niedererbach (Westerwald) und Braubach (Rhein).

Am Wilhelm-Dörpfeld-Gymnasium zu Wuppertal und am Görres-Gymnasium zu Koblenz genoß ich eine gründliche humanistische Schulbildung. Mein Abitur bestand ich am 9. März 1954 in Koblenz.

Im Sommersemester 1954 immatrikulierte ich mich an der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn; dort bestand ich am 6. August 1956 mein Physikum. Meine Studien führten mich für ein Semester nach Freiburg und für zwei Semester nach Wien.

Vom Wintersemester 1957/58 an studierte ich in München, wo ich mich vom 14. IV 1959 bis zum 12. X 1959 dem Medizinischen Staatsexamen unterzog.

